

*All'Insigne Maestro
militare Comandante di
due allievi*

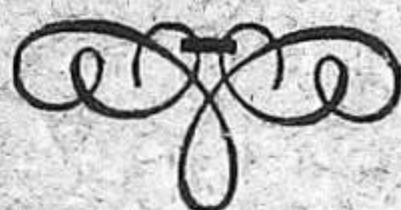
Istituto d'Igiene della R. Università di Torino (Prof. G. BORDONI-UFFREDUZZI)

LA

PSEUDO-TUBERCOLOSI NELL'UOMO

PER I DOTTORI

CARLO MAZZA e ENRICO MENSI



TORINO

TIP. ROUX FRASSATI E C^o

1896.

ISTITUTO D'IGIENE DELLA REGIA UNIVERSITÀ DI TORINO
(Prof. G. BORDONI-UFFREDUZZI)

LA PSEUDO-TUBERCOLOSI NELL'UOMO

PER I DOTTORI

CARLO MAZZA
Assistente d'Igiene.

ENRICO MENSI
Medico nella Sez. infant. dell'Osp. Addolorata.

L'infezione, che prendiamo a trattare, ha una storia assai breve ed una letteratura poco estesa, poichè essa fu accuratamente studiata soltanto nel campo sperimentale quale affezione degli animali, che ordinariamente servono per le ricerche batteriologiche, ma non fu sino ad ora dimostrato sicuramente se sia o no trasmissibile all'uomo.

È bensì vero, che Malassez e Vignal riprodussero la pseudotubercolosi in cavie inoculate col pus d'un ascesso sottocutaneo, che riscontrarono in un bambino morto di meningite tubercolare, per cui essi ne conclusero, che il bambino era morto di una tubercolosi non bacillare. Però prima di addivenire a tale conclusione gli autori avrebbero dovuto fare ricerche batteriologiche più accurate, specialmente sull'essudato meningeo, cosa che essi trascurarono affatto. Di più a destituire d'ogni fondamento la loro affermazione sta un fatto di capitale importanza: mentre nè nel pus dell'ascesso sottocutaneo originario, nè in alcuno degli animali delle prime quattro serie d'inoculazioni essi non trovarono mai il bacillo di Koch, ma soltanto dei micrococchi disposti a zooglea, alla quinta serie invece in una cavia morta in cinquantesima giornata, trovarono distintamente i bacilli tubercolari di Koch. Malassez e Vignal cercano di giustificare la comparsa postuma del vero bacillo tubercolare coll'ipotesi che il bambino fosse affetto da un'infezione mista (tubercolosi di Koch e pseudotubercolosi concomitanti).

Può darsi che ciò sia, ma gli autori non lo hanno dimostrato, e, dal

modo col quale hanno condotto le loro esperienze nasce il sospetto, che abbiano inoculato un materiale puramente tubercolare in cavie già spontaneamente ammalate di pseudotubercolosi; di qui l'infezione mista, nella quale nelle prime esperienze avrebbero prevalso le manifestazioni pseudotubercolari, e nelle ulteriori inoculazioni per l'attenuazione dei germi della pseudotubercolosi i bacilli di Koch sarebbero apparsi distintamente.

Malassez e Vignal non descrivono le culture del loro microrganismo, e sulle sue proprietà morfologiche ci dicono soltanto, che esso presentavasi nei noduli tubercoliformi ora sotto l'aspetto di cocci, ora di bastoncini.

Gli studi ulteriori di Eberth, Manfredi, Chantemesse, Charrin e Royer, or Pfeiffer, Nocard e Masselin, Zagari, Courmont, Grancher e Ledoux, Vincenzi, Parietti, Kitt, Lienaux, Ledoux Lebard, Leroy, Hayem valsero a dimostrare in modo assoluto la natura infettiva della malattia e misero in chiaro le alterazioni anatomico-patologiche che l'accompagnano.

Però gli autori non sono tutti concordi nelle descrizioni che ci tramandarono dei caratteri morfologici e biologici dell'agente specifico della malattia; tantochè si potrebbe a tutta prima dubitare che non uno, ma parecchi siano i germi capaci di produrre la pseudotubercolosi.

E difatti Eberth, che per primo studiò l'eziologia della pseudotubercolosi con metodo veramente scientifico, in due pubblicazioni descrive un bacillo lungo 2-3 volte quanto largo, mentre in una terza memoria ci parla anche di micrococchi. Manfredi isolò dallo sputo di due pneumonici oltre al bacillo di Friedländer un corto bastoncino, che si coltivava su tutti i mezzi ed osservò che prendeva la forma di micrococco man mano che le culture invecchiavano.

Questo microrganismo inoculato a conigli, cavie, topi, cani ed uccelli li uccise di pseudotubercolosi.

Charrin e Roger, Dor, Zagari isolarono dagli organi di animali da esperienza morti spontaneamente di pseudotubercolosi un germe che potrebbe identificarsi con quello di Eberth e di Manfredi, ma secondo Charrin e Roger se ne differenzia pel fatto che il cane, il gatto e gli uccelli ne sarebbero refrattari.

Grancher e Ledoux misero in rilievo un fatto non ancora osservato per il bacillo della pseudotubercolosi: essi rilevarono, che il microrganismo si presenta nelle diverse fasi del suo sviluppo ora sotto forma di cocci a zooglea, ora di streptococchi, ora di micrococchi isolati, ora a forma di bacilli isolati od in catena.

Pfeiffer in un lavoro accurato sulla pseudotubercolosi descrive un bacillo di lunghezza variabile più spesso, corto, immobile, che non si colora col Gram e si sviluppa bene su tutti i mezzi alcalinizzati, di preferenza però sull'agar. Non fluidifica la gelatina.

Pfeiffer trovò molto recettivi al suo microrganismo le cavie, i conigli, i topi; laddove il cavallo, il cane, la capra, il gatto e gli uccelli si mostrarono poco adatti ai suoi esperimenti.

Nocard e Masselin, Courmont, Kitt, Lienaux, Leroy, isolarono dagli organi dei bovini affetti da pseudotubercolosi, e Preisz e Guinard dai visceri dei montoni forme bacillari rassomiglianti a quelle che Pfeiffer trovò nei roditori e nel cavallo, e riprodussero la malattia in altri animali inoculando le culture. Parietti descrisse un bacillo della pseudotubercolosi del coniglio che differisce da quello di Pfeiffer solo in quanto si colora col metodo Gram, e Vincenzi isolò un altro bacillo, il quale ha la proprietà caratteristica di sviluppare un odore agiaceo se coltivato a temperatura non superiore ai 25°, nella gelatina, nell'agar e nel siero.

Hayem avrebbe isolato coll'esame microscopico e batteriologico il bacillo della pseudotubercolosi di Pfeiffer dal pus delle capsule surrenali d'un giovanotto che morì di gastroenterite. Tale microrganismo avrebbe pure rintracciato mediante culture nel sangue, nella milza e nell'intestino del cadavere.

Infine Du Cazal e Veillard hanno isolato un bacillo mobile, fondente la gelatina da un nodo del pancreas d'un uomo, il quale morì con fenomeni coleriformi e che presentò all'autopsia il peritoneo gremito di piccoli noduli. Inoculato nei conigli il microrganismo ne produsse la morte, con neoformazione di noduli nei visceri di alcuni di essi.

Accenniamo appena alla pseudotubercolosi aspergillina di Chantemesse ed alla pseudotubercolosi di Eppinger che non ci interessano direttamente nel nostro lavoro.

Dalla nostra rapida rassegna, sulla storia della pseudotubercolosi emergono evidenti i seguenti fatti:

1° Non è ancora dimostrato in modo assoluto, se la pseudotubercolosi sia un'infezione causata da un sol germe specifico, oppure se parecchi siano i germi capaci di produrre tale malattia.

2° Tutti gli animali che servono per le esperienze batteriologiche possono con relativa frequenza contrarre spontaneamente la pseudotubercolosi.

3° La pseudotubercolosi può colpire i bovini (Nocard e Masselin, Courmont, Kitt, Lienaux, Leroy), e gli ovini (Preisz

e Guinard), quegli animali cioè le carni dei quali servono per l'alimentazione dell'uomo; di qui una via di trasmissione di questo germe dagli animali all'uomo, con pericolo dell'infezione per quest'ultimo, qualora esso ne sia recettivo.

4° Infine non è ancora dimostrato con assoluta certezza che il germe o i germi della pseudotubercolosi siano per sè soli patogeni anche per l'uomo.

Abbiamo già visto a questo proposito che le ricerche di Malassez e Vignal non furono condotte con quel rigore scientifico che le conclusioni loro esigevano.

Abbiamo anche ricordato, che Manfredi isolò dallo sputo di due uomini che morirono di polmonite, oltre al pneumococco di Friedländer un micrococco capace di produrre negli animali da esperimento le manifestazioni della pseudotubercolosi.

Quale parte abbia avuto questo micrococco nell'eziologia nel decorso e nell'esito letale dell'infezione il Manfredi non ha potuto stabilire, poichè gli mancò l'autopsia dei cadaveri e le sue ricerche si limitarono allo sputo, mentre avrebbe potuto estenderle al sangue ed al succo della milza.

E quindi ammissibile che il micrococco, patogeno per gli animali, sia stato indifferente pei due pneumonici, la malattia dei quali può attribuirsi unicamente al pneumobacillo di Friedländer. Può anche il micrococco essere intervenuto quando già la malattia era in corso, influenzando più o meno il decorso della medesima, l'autore però non lo ha dimostrato.

Restano ancora i due casi di Hayem e di Du Cazal e Veillard. Un giovanotto morì di gastroenterite dopo ventitrè giorni di malattia. La pelle si fece di colore bronzino e le capsule surrenali presentavano degli ammassi di sostanza caseosa, nei quali l'Hayem non poté constatare la presenza del bacillo tubercolare di Koch, e trovò invece un microrganismo, che pei suoi caratteri morfologici e biologici, e pei noduli che produsse nei visceri degli animali inoculati, rassomiglia al bacillo della pseudotubercolosi, descritto da Pfeiffer. Lo stesso microrganismo fu isolato dal sangue, dalle feci e dalla milza.

Il caso di Hayem porta un grande contributo allo studio dell'argomento che ci occupa, perchè dimostra che il b. della pseudotubercolosi può essere patogeno per l'uomo. Ma dalla breve relazione delle sue esperienze non risulta che egli abbia fatte ricerche speciali per escludere la concomitanza del bacillo di Koch nel morbo di Addison da lui osservato.

Son note le difficoltà che si offrono per riscontrare il bacillo della tubercolosi nelle affezioni croniche di tale natura; difficoltà ancora maggiori nel caso di Hayem, dove l'autore non poteva valersi per la diagnosi batteriologica del mezzo comune di inoculare ad animali da esperienza il materiale patologico sospetto, perchè in esso si trovavano germi capaci di uccidere l'animale prima che il bacillo di Koch potesse spiegare la sua azione patogena.

Lo stesso dicasi del caso di Du Cazal e Veillard, i quali non si curarono di ricercare se il bacillo di Koch abbia potuto in qualche modo partecipare al processo morboso da loro osservato.

Da ultimo il dott. G. Muscatello nel pus di un'osteomielite e periostite suppurativa subacuta dell'epifisi prossimale della tibia constatò la presenza di corti bacilli, talora cocciformi, disposti ad accumuli che, per le proprietà biologiche e per la produzione di piccoli focolai suppurativi multipli nei visceri delle cavie inoculate, rassomigliavano agli agenti della pseudotubercolosi di Pfeiffer. Però Muscatello non descrive gli elementi del pus, e non dice se ha fatto esperienze atte ad escludere la concomitanza di altri microparassiti nella osteoperiostite da lui osservata.

A risolvere in modo affermativo il quesito che forma il titolo del presente lavoro, crediamo utile di riferire i nostri studi sopra un caso di setticemia che ci è occorso di osservare, dove dal pus di un'empiema, dal sangue della milza, dall'escreato isolammo un microrganismo, patogeno per gli animali, che rassomiglia a quello descritto da Pfeiffer nella pseudotubercolosi dei roditori.

D. Rosina, di mesi 17. Un fratello e una cugina dell'avola materna morirono di malattia sospetta di tubercolosi.

Allattamento misto, abitazione umida. Vaccinazione a 8 mesi, senza successo. Diarrea frequente durante il periodo della dentizione, che fu alquanto ritardata.

Nei quattro mesi che precedettero la presente malattia fu a contatto con una persona di servizio affetta da ulcerazioni scrofolose al collo. Verso la seconda metà dello scorso luglio la bambina ebbe brividi, calore, sudore, vomito, diarrea e tosse secca, stizzosa. In seguito comparve stitichezza ostinata, dimagrimento, pallidezza, tosse frequente convulsa. La febbre salì a 41° C. Il medico fece diagnosi di broncopolmonite e ordinò l'applicazione di vescicanti al dorso e la somministrazione di purganti associati ad antielmintici.

Dopo una quindicina di giorni la temperatura si abbassò e furono prescritte inalazioni di olio essenziale di terebentina. Però, proseguendo il dimagrimento ed il pallore, e persistendo la febbre, la tosse e la dispnea, che in ultimo divenne ortopnea, il giorno 27 gennaio scorso fu portata al consulto. — Temper. 39°,4; resp. 32; polso 154.

Costituzione scheletrica regolare, pallida la cute e le mucose visibili. Sistema

peloso sviluppato al dorso, ciglia lunghe e nere, pelle arida, pannicolo adiposo quasi scomparso, muscolatura esilissima. — Gangli periferici (collo, ascelle, inguine) infiltrati, mobili, duri, indolenti. — Lingua patinosa, inappetenza, tosse spasmodica, costipazione.

Alla metà destra del torace anteriormente sollevamento della regione sotto-clavicolare, ottusità che si confonde in basso con quella del fegato e a sinistra sorpassa la linea mediana dello sterno, posteriormente mancanza del fremito pettorale, ottusità, affievolimento del respiro. — A sinistra suono di percussione chiaro, respiro vescicolare aspro.

Urto della punta al quarto spazio intercostale, all'infuori della linea mammillare: toni puri. Il fegato deborda di 2 cm., è duro, indolente, mobile nella respirazione. La milza si estende dalla nona costola a 2 cm. oltre l'arco costale, è mobile nella respirazione, dura, non dolente alla palpazione.

Nulla di abnorme nell'urina.

Colla siringa del Pravaz si estrae dal torace destro un pus denso, cremoso, inodoro.

Il giorno 29 dello stesso mese si procede all'aspirazione del pus seguita da lavatura del cavo pleurico mediante soluzione fisiologica di cloruro sodico filtrata e sterilizzata. Diminuisce la dispnea e il sonno si fa più tranquillo, ma la ottusità toracica ricompare dopo pochi giorni.

La temperatura (rettale) oscillò da 38°,8 a 39°,2-39°,4 fino al giorno 5 febbraio, in cui si notò un abbassamento a 38°,7-38°,37°,7, che durò con poche variazioni, cioè 39° al 17°, 39°,6 al 23 di febbraio, 37°,3-37°,4 al 5, al 6, all'11 di marzo fino al 27 di quest'ultimo mese.

In tale giorno fu proposta ed eseguita la toracotomia con fuoruscita di più di un litro di pus coi caratteri di quello estratto coll'aspiratore del Potain. La bambina ne ritrasse un rilevante sollievo.

La temperatura oscillò da 38°,4 a 37°,8-37°,6 fino al 13 di aprile; fu normale fino al 19: la sera di quest'ultimo giorno insorse improvvisamente febbre a 40°,1 accompagnata da grande agitazione e dispnea; l'esame all'indomani dimostrò trattarsi di polmonite del lobo superiore di sinistra, la quale però non presentò nulla di straordinario nel decorso, e terminò per crisi il 26 dello stesso mese.

La ferita curata asetticamente, tenuta aperta mediante zaffo di garza sterilizzata, continuò a secernere una quantità di pus di giorno in giorno decrescente fino a che il 21 maggio pervenne a cicatrizzazione. La bambina gode ora di ottima salute, è apiretica, cresciuta in peso e notevolmente ingrassata.

Esposta così brevemente la storia clinica dell'ammalata, veniamo al reperto dell'esame microscopico eseguito sul pus e sul succo di milza estratti per mezzo d'una puntura colla siringa Pravaz sterile, e sul secreto polmonare.

Il pus denso, cremoso, uniformemente paglierino, è costituito in massima parte da una massa amorfa, necrosata; vi si notano dei residui di globuli bianchi disfatti, ridotti ai soli nuclei, circondati da poche cellule non ancora disfatte, ma già in via di degenerazione. In qualche preparato, alla periferia degli ammassi necrosati, si scorgono dei piccoli

accumuli di cellule linfoidi, ed anche cellule più grosse, granulose, rotondeggianti, a contorni netti, riunite fra loro, come in tessuto organizzato. Qualche volta, esaminando a piccolo ingrandimento succede di poter osservare 3-4 di questi accumuli, disposti concentricamente, in modo da circoscrivere, con larghe interruzioni, un ammasso di sostanza necrotica. Sia nella massa necrosata, sia fra le cellule e sia nell'interno di esse si trovano dei microrganismi diversi per forma e grandezza. Alcuni sono rotondeggianti, altri ovali, altri hanno l'aspetto di corti bastoncini e pochi sono lunghi bacilli. Alcuni sono isolati, altri uniti a zooglea, tutti si tingono poco bene colle soluzioni acquose dei colori comuni di anilina e preferiscono le soluzioni di Ehrlich, di Ziehl, di Löffler; tutti si decolorano col trattamento di Gram; però la decolorazione si fa lentamente e conviene prolungare per circa un minuto la permanenza del vetrino nell'alcool per avere la decolorazione completa. Le forme rotonde sono più abbondanti nelle masse caseificate, i bacilli stanno di preferenza nell'interno delle cellule.

Per ciò che riguarda gli sputi, trattandosi di un ammalato di così tenera età, non potemmo avere a nostra disposizione che ben piccole quantità di materiale, raccolti con molta fatica, mediante batuffoli di cotone asettico introdotti per la bocca sino al vestibolo della faringe. Essenzialmente l'escreato si componeva di due parti, l'una mucosa (muco e cellule epiteliali), provenienti probabilmente dalla trachea, e di nessuna importanza; l'altra parte, completamente isolata dalla precedente, era costituita da piccoli ammassi di sostanza amorfa, circondati da globuli bianchi in via di degenerazione, e gremiti di innumerevoli micrococchi a forma irregolare, frammisti a qualche bastoncino.

In un preparato ci riuscì di vedere un alone semicircolare di cellule piuttosto grandi, che racchiudeva nella sua concavità un po' di sostanza caseosa e numerosi micrococchi. Questi reagivano alle sostanze coloranti come quelli del pus.

Nel succo di milza di notevole si poté rilevare soltanto la presenza degli stessi microrganismi riscontrati nel pus, con prevalenza però delle forme a corto bastoncino.

Per quanto siansi osservati diligentemente numerosi preparati, tanto del pus, che del succo di milza, e dell'escreato, per vedere se vi fossero altri germi, specialmente quelli della tubercolosi, si ebbe reperto negativo.

Da noi, prima di procedere all'esame microscopico del materiale suddetto, si credeva di essere in presenza d'un caso di pioemia o di tubercolosi generalizzata; il reperto del microscopio non ci apportò un grande

sussidio per la diagnosi eziologica della malattia; perciò abbiamo ricorso all'esame batteriologico, praticando culture dello stesso materiale su gran parte dei mezzi più comunemente usati ed inoculazioni nel cavo addominale e nel cellulare sottocutaneo di cavie e conigli. Le culture in gelatina vennero mantenute a 18C°, le altre a 37°. Le culture in brodo furono le prime a dar segno di sviluppo, mediante un intorbidamento già manifesto dopo 6 ore d'incubazione, il quale va man mano facendosi più marcato, specialmente alla superficie del liquido, ove in capo a due o tre giorni si forma un ammasso bianco, che facilmente si disaggrega e precipita per quanto si procuri di non impartire scosse al tubo di cultura. Sul fondo e sulle pareti si va man mano depositando una patina biancastra, e, contemporaneamente, alla superficie del brodo continua la vegetazione, la quale però cessa in capo a 10-12 giorni; allora il brodo si presenta limpido, mentre sulle pareti e sul fondo è abbondante lo strato biancastro.

Negli altri mezzi lo sviluppo è meno caratteristico ed anche più lento, solo dopo 24 ore se ne hanno le prime tracce, sotto forma di un velo sottile ed opalino, che ben presto si fa più denso e grigiastro. Il mezzo solido dove il microparassita vegeta più abbondantemente è l'agar glicerinato; esso si sviluppa anche sulle patate se alcalinizzate; le culture fatte su patate acide rimasero sterili. Sulle piastre di gelatina si sviluppano già dopo 24 ore piccole coloniette rotondeggianti, trasparenti, delle quali le superficiali, in capo a 4-5 giorni, acquistano il diametro massimo di 5-8 mm., sono rotondeggianti, di color grigio chiaro, hanno struttura finamente granulosa e contorni rientranti. Le colonie profonde rimangono puntiformi, come dopo le prime 24 ore di sviluppo. Le culture per infissione in gelatina si sviluppano a forma di chiodo; in quelle fatte a strisciamento lo sviluppo è già massimo dopo 2-3 giorni. Spesso, particolarmente se la gelatina è molto alcalina, questa viene fluidificata, però assai lentamente. Qualche volta la fluidificazione non si fa od è limitatissima; per meglio osservarla conviene impedire l'evaporazione del liquido proveniente dalla fusione della gelatina, chiudendo il tubo di cultura alla lampada, o coprendone la bocca con un cappuccio di gomma; altrimenti, poichè la fluidificazione avviene assai lenta, l'evaporazione del liquido la nasconde affatto, e, dopo qualche giorno, accade di osservare nient'altro che un forte abbassamento nel livello del mezzo nutrizio.

Nei preparati microscopici fatti dalle culture, qualunque sia il mezzo nutrizio, si scorgono forme diverse di microrganismi, anche quando il preparato è fatto pescando in una colonia bene isolata. Il polimorfismo

che si osserva è sorprendente; bacilli lunghi due ed anche tre volte quanto larghi si trovano frammisti a cocci, talora perfettamente rotondeggianti, aventi $0,8-1,2\mu$ di diametro; il rapporto numerico fra le forme di bastoncino e quelle di cocco varia secondo l'età della cultura che si osserva: più è vecchia la cultura e maggiore è il numero dei cocci. Abbiamo studiato accuratamente il fenomeno ed abbiamo potuto stabilire con certezza che il poliformismo sta in relazione col ciclo di sviluppo del microrganismo da noi isolato.

Difatti nelle culture delle prime 24 ore è ben difficile riscontrare la presenza di cocci; si osservano soltanto bacilli, più o meno lunghi, lentissimamente mobili, i quali si tingono bene con qualsiasi colore basico d'anilina e col metodo Gram, e stentano a decolorarsi, poichè occorre tenere il preparato almeno mezzo minuto in alcool assoluto per averne la decolorazione completa. Nelle culture aventi due giorni di vita incominciano ad apparire dei bastoncini più corti e dei cocci isolati, i quali aumentano nel 3° e 4° giorno, mentre il numero dei bastoncini diminuisce, finchè in 7-8 giorni le forme bacillari sono scomparse affatto o quasi, e non rimangono che cocci talora isolati, più spesso riuniti a zooglea, e qualche volta a catena (specialmente nelle culture in brodo). Nè fra i bastoncini ed i cocci vi ha solamente differenza di forma chè anche resistono diversamente al calore ed all'essiccamento. Abbiamo constatato che i cocci si mostrano più resistenti.

Per saggiare tale resistenza abbiamo fatto diverse esperienze e ci siamo serviti di listerelle di carta bibula sterilizzata, che abbiamo immerso in culture in brodo di differente età. Le listerelle venivano a contatto con una cultura di 9 ore nella quale si trovavano soli bastoncini; altre cartoline venivano immerse in altra cultura di sette giorni nella quale constatammo la presenza di soli micrococchi. Fatte essiccare le cartoline rapidamente, mediante una corrente d'aria secca e sterile le esponevamo a temperature diverse (sempre a calore umido) per un tempo pure diverso. Delle cartine così trattate due mettevamo a germogliare in brodo ed una si innestava nel cavo addominale d'una cavia. Abbiamo così eseguito parecchie serie di esperienze che riassumiamo nella tavola seguente:

Durata dell'azione del calore dei microorganismi espressa in minuti primi.

Temperatura	1				2				5				10				15				30				45			
	REPERTO				REPERTO				REPERTO				REPERTO				REPERTO				REPERTO				REPERTO			
	Bacilli		Micrococci		Bacilli		Micrococci		Bacilli		Micrococci		Bacilli		Micrococci		Bacilli		Micrococci		Bacilli		Micrococci		Bacilli		Micrococci	
	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia
100° C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90° "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80° "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
70° "	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60° "	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58° "	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55° "	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0	0	0
50° "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	0	0
45° "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+

NB. — Il segno + nella colonna delle culture indica che il microorganismo si è sviluppato: lo stesso segno nella colonna dell'innesto negli animali indica che questi sono morti. — Il segno 0 indica che le culture rimasero sterili e che le cavia non reagirono all'innesto.

Le forme micrococciche sopravvivono ancora all'azione della temperatura di 60°C per 5', ma non sono capaci di uccidere le cavia; e soltanto la temperatura di 58°, non protratta oltre i 2', lascia ai micrococci facoltà patogene verso le cavia; le forme bacillari invece muoiono a 60° e 58° anche se il calore ha agito per un solo minuto; sopravvivono alla temperatura di 55°, ma soltanto quando sono lasciati a 50° per un tempo non maggiore di 5' conservano proprietà patogene.

Vediamo ora come si comportano le due diverse forme all'essiccamento; le cartoline imbevute in cultura giovane ed altre in cultura vecchia, ed essiccate rapidamente con una corrente d'aria secca, venivano conservate in un essiccatore a cloruro di calcio, dal quale tratto tratto si prelevavano tre cartoline; due per culture ed una per l'innesto negli animali. Il seguente quadro riassume i risultati di questa serie di esperienze:

Durata dell'essiccamento	Cultura giovane bacilli		Cultura vecchia micrococci		Osservazioni
	Culture	Innesto cavia	Culture	Innesto cavia	
3 ore	+	+	+	+	Le forme bacillari muoiono dopo 24 ore di permanenza in ambiente secco, mentre i micrococci perdono il potere patogeno soltanto dopo quattro giorni, e muoiono in settimana giornata.
6 "	+	+	+	+	
12 "	+	+	+	+	
24 "	+	0	+	+	
2 giorni	0	0	+	+	
3 "	0	0	+	+	
4 "	0	0	+	+	
5 "			+	0	
6 "			+	0	
7 "			0	0	
8 "			0	0	

(I segni + e 0 hanno lo stesso significato che avevano nella tabella precedente).

Dal reperto microscopico delle culture giovani (9-24 ore) e delle culture vecchie (7-8 giorni), dal modo di comportarsi delle due forme del microrganismo che studiammo sia all'azione del calore, sia all'azione dell'essiccamento, noi ci crediamo autorizzati a stabilire che il polymorfismo nel nostro germe sta in rapporto col ciclo di sviluppo dello stesso e che i micrococchi sono forme più durevoli, più resistenti agli agenti esterni che non le forme di bastoncino.

Veniamo ora ai risultati dell'innesto negli animali; due cavie furono inoculate nel cavo addominale con $\frac{2}{10}$ di cc. del pus estratto con puntura esplorativa dalla cavità pleurica della bambina inferma. Tutte due le cavie son morte; l'una 8 giorni dopo l'innesto, l'altra 9 giorni dopo; tutt'e due presentarono lo stesso quadro necroscopico; perciò quanto diremo per l'una va ripetuto anche per l'altra.

Il peritoneo era arrossato coperto da un'essudazione siero-fibrinosa, i vasi dell'intestino erano iniettati, i diversi organi parenchimali tumefatti e chiazziati da innumerevoli noduli bianco-giallastri, strettamente aderenti agli organi stessi. La milza presentava le alterazioni anatomo-patologiche più marcate: molle, friabile, nerastra, molto ingrossata (6-7 volte il volume normale), gremita di noduli su tutta la superficie, ed anche nel suo spessore, tantochè la superficie del taglio presentava un aspetto marmoreggiato a fondo rosso con chiazze bianche. I noduli avevano un volume variabile da una piccola capocchia di spillo ad una lenticchia; i più erano isolati, altri confluivano per formare un nodo unico.

Il fegato, pure ingrossato, ma molto meno della milza, nerastro e friabile, presentava pure un numero notevole di noduli, minore però che nella milza, i quali interessavano specialmente la faccia diaframmatica del viscere, ed in corrispondenza del margine tagliente confluivano, formando delle larghe zone di tessuto biancastro, duro e resistente al taglio. Nella massa interna del fegato i noduli erano scarsi.

I gangli linfatici erano tumefatti ed alcuni enormemente duri, a superficie granulosa, bernoccoluta.

L'intestino conteneva una massa liquida, torbida e la mucosa presentava alcune zone arrossate. I reni erano pure tumefatti, molli e rosso-bluastrì, con scarsi noduli sulla capsula; la sostanza corticale non era distinguibile dalla midollare.

Sulla faccia addominale del diaframma si distinguevano parecchi noduli, specialmente sul centro tendineo, cui aderivano lassamente.

Nel cavo pleurico si notava un essudato liquido sanguinolento, con arrossamento della sierosa, ed i polmoni presentavano dei focolai di epatizzazione rossa, che spremuti lasciavano fuoruscire un liquido rossigno niente schiumoso. Nessun nodulo nella cavità toracica, niente di notevole al cuore che conteneva sangue liquido nerastro.

I noduli, raccolti da qualunque viscere, schiacciati sopra un vetrino portoggetti e colorati con qualsiasi colore basico di anilina presentavano per lo più degli ammassi di sostanza giallastra, amorfa, non attaccabile dai colori, circondati da cellule grandi, rotonde, granulose e da cellule endoteliali in disfacimento.

Decolorando alquanto il preparato con alcool a 70° si riusciva a distinguere sia nell'interno degli elementi organizzati, sia frammisti ad essi, dei batteri corti e dei micrococchi; i batteri si trovavano più specialmente sparsi fra le diverse cellule, mentre i micrococchi, talvolta isolati, più spesso a zooglea stavano nell'interno delle cellule ed anche frammisti alla sostanza amorfa. Non è tanto facile mettere in evidenza i microrganismi poichè se non si trattano i preparati con alcool a 70° la sostanza colorante eccedente, impedisce di distinguere nettamente un elemento dall'altro, e viceversa, se si lascia agire l'alcool troppo a lungo vi è il pericolo che i microorganismi perdano la sostanza colorante.

Anche nell'essudato peritoneale e pleurico e nel succo dei focolai epatizzati del polmone trovammo gli stessi microrganismi, con prevalenza però delle forme di bastoncino; mentre nella sostanza che fuoresce per compressione dai noduli sono più numerosi i micrococci.

Struttura dei noduli. — Per studiare la struttura istologica dei noduli, che trovammo nei visceri interni delle due cavie abbiamo sezionato i pezzi patologici previamente fissati in alcool ed inclusi in paraffina. Abbiamo tentato altri metodi per fissare gli elementi, ma abbiamo ottenuti risultati migliori col trattamento in alcool. Le sezioni poi furono colorate con diversi metodi: meritano però la preferenza la soluzione acquosa di azzurro di metilene per l'esame istologico, e la genziana Ehrlich, con successivo rapido lavamento in alcool a 70, per l'esame batterioscopico.

Non è molto facile mettere in evidenza i microorganismi, poichè senza l'uso dell'alcool il preparato resta troppo colorato, e viceversa conviene non spingere troppo oltre l'azione dell'alcool, poichè i microrganismi possono decolorarsi: soltanto dopo lunghe e ripetute prove si possono ottenere dei preparati veramente ben riusciti.

I noduli si presentano diversamente costituiti a seconda della loro età e grandezza. Nelle granulazioni più grosse ed antiche si scorgono, a debole ingrandimento, due zone concentriche ben distinte: la più esterna, quella che si continua col tessuto sano, mostra le cellule parenchimatose dell'organo alterate nella loro grandezza e nel protoplasma; queste cellule si tingono male, sono atrofiche e premute in un'infiltrazione abbondante di leucociti. Questa zona periferica non è nettamente divisa dal tessuto sano al quale si unisce per mezzo di propaggini cuneiformi.

La zona centrale è costituita nella sua parte più esterna da poche cellule dell'organo, profondamente alterate, da molte cellule di nuova formazione, più o meno grandi, rotondeggianti, granulose, nucleate; gli spazi infracellulari sono invasi da leucociti in massima parte degenerati

od in via di degenerazione. La parte più centrale di questa zona interna è costituita da una massa caseosa, amorfa, giallastra, non tingibile coi colori comuni di anilina, che qualche volta presenta dei punticini di pigmento.

Nei noduli più giovani, di piccola e media grandezza manca la distinzione delle due zone; alla periferia si notano cellule granulose neofornate e cellule parenchimatose atrofiche, infiltrate da leucociti: man mano che dalla periferia si procede verso il centro il tessuto parenchimatoso diminuisce e scompare, le cellule granulose rimpiccoliscono a spese del protoplasma, come pure i globuli bianchi, tantochè il centro dei noduli giovani appare costituito quasi da soli nuclei che si colorano fortemente. Non si scorge neoformazione di vasi, tanto nei noduli recenti quanto in quelli caseificati.

Osservando le sezioni a forte ingrandimento (800-1000 diametri) riesce spesso di poter scorgere gli stessi microrganismi, che trovammo già nel succo dei tubercoli. Nelle sezioni però si ha il vantaggio di poterne osservare la distribuzione topografica. Questi microrganismi, aventi in massima parte forma rotondeggiante, mentre pochi hanno l'aspetto di corti bastoncini, sono particolarmente numerosi alla periferia dei noduli, là dove il tessuto alterato si continua col tessuto sano, e quivi le forme bacillari sono discretamente numerose; però prevalgono sempre i micrococchi, i quali si presentano uniti a zooglea nell'interno delle cellule granulose e dei globuli bianchi, oppure anche isolati, ora incorporati nelle cellule, ora sparsi negli spazi infracellulari. Nella massa caseosa dei noduli antichi qualche volta si riesce a scorgere dei piccoli ammassi di forme micrococciche debolmente colorate: più spesso però essi non si tingono affatto e si distinguono dalla sostanza caseosa per la loro rifrangenza e per la regolarità dei margini. Però, ripetiamo, la sede di predilezione di questi microorganismi sta nella zona più periferica dei noduli.

Abbiamo trasportato i noduli nei comuni mezzi di cultura ed abbiamo sempre riprodotto le stesse colonie di microrganismi polimorfi, i quali inoculati in animali di laboratorio hanno, sempre riprodotta l'infezione, qualunque sia stata la via di innesto. Cavie, conigli, cani, topi bianchi, colombi sono tutti recettivi; però la malattia si riproduce tipica nei tre primi, e più specialmente nelle cavie e nei conigli. Il cane muore raramente di questa infezione, e quando la morte succede, questa avviene a distanza dall'inoculazione (40-60 giorni). Abbiamo tentato varie vie di innesto: il tessuto sottocutaneo e le sierose (peritoneo e pleura), mediante iniezioni; il tubo digerente, mescolando agli alimenti materiale virulento proveniente dai visceri delle due cavie o da culture, le vie respiratorie,

sia per iniezione diretta, mediante siringa, nei polmoni o nella trachea, e sia per inalazione, cacciando nelle gabbie degli animali una corrente d'aria, la quale, passando attraverso un polverizzatore di Buchner (1), contenente una emulsione di cultura in acqua sterilizzata, trasportava in sospensione i germi patogeni.

Qualunque sia stata la via di innesto, si ebbe sempre per esito la morte dell'animale; hanno fatto eccezione due cani, inoculati l'uno nel cavo addominale e l'altro nel tessuto sottocutaneo, che, pur presentando segni manifesti di malessere (diminuzione di peso, febbre, inappetenza, sopore), non morirono spontaneamente. Però ambedue, uccisi 70 giorni dopo l'innesto, mostrarono nell'autopsia le note patologiche che abbiamo già descritte nelle due cavie.

Se l'inoculazione del germe, qualunque sia il modo di innesto, riproduce sempre la malattia, questa però varia alquanto a seconda della via che il germe ha tenuto per arrivare all'organismo, e varia specialmente il tempo che decorre dall'inoculazione alla morte, e qualche volta anche il reperto necroscopico. La morte avviene più lentamente quando vien prescelta per l'infezione la via digerente; sopraggiunge invece col massimo di rapidità quando si praticano le iniezioni endovenose del materiale virulento: l'animale muore in questo caso in 24-48 ore, e mostra all'autopsia fenomeni di intossicazione più che di infezione: cellulare sottocutaneo edematoso; sierose arrossate, coperte da essudato siero-fibrinoso e disseminate di chiazze emorragiche; organi parenchimali ingorgati, pastosi, con chiazze emorragiche all'esterno e nel parenchima interno. Mancanza assoluta di noduli.

Dalle culture fatte col sangue di questi animali si ottennero sempre i soliti microrganismi; le culture fatte coll'essudato delle sierose rimasero quasi sempre sterili.

Le autopsie degli animali infettati per la via digerente dimostrarono sempre una quantità imponente di noduli nei visceri addominali; ganglii mesenterici molto tumefatti e duri; intestino cosparso di piccole ulcerette irregolarmente distribuite.

Gli animali sottoposti ad iniezione sottocutanea del virus davano i primi segni di malattia con una tumefazione dura al punto di innesto, tumefazione che andava talvolta assumendo volume assai grande (come una noce nelle cavie e come un pugno nei cani); col crescere del volume scemava la durezza del tumore, che si faceva pastoso ed in seguito flut-

(1) Buchner, "Einfacher Zerstäubungsapparat zu Inalations-Versuchen", *Centralbl. f. Bacteriologie*, vol. 6, 1889, pag. 274.

tuante; talvolta esso si apriva, lasciando fuoruscire un pus denso, bianco-giallastro, caseoso, inodoro, in cui si trovavano assai numerosi i soliti germi di varia forma. Altre volte il pus andava assorbendosi lentamente, senza chè la pelle si ulcerasse; ma la tumefazione non guarì mai completamente prima che l'animale morisse.

Gli animali inoculati per la via aerea morivano fra il 4° e 7° giorno di malattia, e presentavano la solita infezione generale; però i noduli ai visceri addominali erano assai scarsi; al contrario erano più manifeste le affezioni della cavità toracica; la pleura era infiammata e qualche volta il foglietto viscerale presentava scarsi noduli; i polmoni erano epatizzati per la massima parte della loro estensione, e talvolta presentavano dei noduli nel loro spessore.

Il cuore partecipava al processo morboso più frequentemente in questi animali inoculati per la via polmonare, che non negli altri.

Sul pericardio, nel miocardio e rarissimamente anche nell'endocardio, si potevano riscontrare i noduli bianco-giallastri.

Questi sono i dati che abbiamo potuto raccogliere intorno al caso da noi osservato, queste le esperienze colle quali credemmo di doverlo illustrare, prima di fare una diagnosi che avesse fondamento scientifico. A questo punto è bene riepilogare brevemente: A noi si presentò una bambina ammalata, coi sintomi clinici di un'infezione generale, che poteva essere una piemia od anche una tubercolosi generalizzata; non si poteva fare una diagnosi sicura, perchè quando vedemmo l'ammalata per la prima volta, la malattia era già in corso da lungo tempo, e quindi buona parte dei sintomi clinici erano sfuggiti alla nostra osservazione. Per allora il fatto predominante, che esigeva un pronto intervento terapeutico, era l'empiema, accompagnato da febbre a temperatura elevata. Prima di agire ci parve opportuno conoscere la natura eziologica del morbo. L'esame microscopico del pus, del sangue di milza, dell'escreato, non ci ha offerto criteri sufficienti pel nostro scopo: abbiamo trovato un microrganismo differente da ognuno dei germi specifici delle comuni infezioni dell'uomo, e nulla più. Le culture fatte col pus e col secreto polmonare, ma assai più chiaramente l'innesto negli animali ci conducono a stabilire che l'affezione della nostra bambina è di origine pseudo-tubercolare.

A confortarci nella nostra diagnosi noi ricorriamo di preferenza ai risultati delle esperienze sugli animali, perchè il microrganismo da noi trovato si è caratterizzato specialmente nelle alterazioni anatomico-patologiche che è capace di produrre; le culture, al contrario, non offrono caratteri spiccati tali da differenziare il germe del quale ci occupiamo da altri. D'altronde chi volesse prendere per base le osservazioni fatte

fino ad ora dai diversi autori intorno alla forma ed alla biologia dello agente eziologico della pseudo-tubercolosi, per stabilirne i caratteri speciali atti a distinguerlo dagli altri microrganismi, lungi dall'arrivare allo scopo, si troverebbe costretto a riconoscere che, avendo gli autori sperimentato in condizioni diverse ed essendosi alcuni di essi preoccupati di particolari di poca importanza, invece di contribuire a ben caratterizzare il germe specifico della pseudo-tubercolosi, gli sperimentatori, partendo ciascuno dai risultati delle proprie esperienze personali, tenderebbero a lasciar dubitare che parecchi siano i germi capaci di produrre tale affezione.

Noi però, in base alle nostre esperienze, crediamo all'unità specifica del germe eziologico della pseudo-tubercolosi. Invero le differenze più spiccate fra i diversi agenti della pseudo-tubercolosi descritti finora, che lascerebbero supporre la pluralità eziologica di tale affezione, consisterebbero nella forma del parassita, nel suo modo di comportarsi alla colorazione col metodo Gram, nella facoltà di fondere la gelatina. Ora noi possiamo demolire queste differenze; difatti, quanto alle variazioni morfologiche, esse dipendono dal polimorfismo spiccato che questo microrganismo presenta, polimorfismo già constatato da altri (Zagari, Manfredi), e che noi abbiamo più sopra messo evidentemente in rapporto col suo ciclo di evoluzione.

Per quanto riguarda la proprietà del microparassita di scolorarsi col metodo Gram, secondo alcuni, e di rimaner colorato per altri, anche qui noi abbiamo più sopra accennato alla lentezza colla quale esso va decolorandosi, quando dalla tintura di jodio si passa all'alcool; se esaminiamo i preparati dopo soli 15 secondi di permanenza in alcool, i microrganismi si mostrano ancora ben colorati; mentre una permanenza di 30 secondi nello stesso reattivo li decolora affatto. È perciò probabile che dal tempo diverso che si lasciò agire l'alcool dipendono le divergenze degli autori.

Da ultimo, sul potere di fondere la gelatina, riscontrato da alcuni, non confermato da altri, possiamo richiamarci a quanto abbiamo già esposto in proposito, ricordando, che il germe da noi isolato fluidifica assai lentamente la gelatina, tantochè per poter osservare distintamente il fenomeno conviene coprire la bocca del tubo di cultura per impedire che il liquido evapori man mano che la gelatina fonde. Notiamo che il fenomeno della fluidificazione si ottiene e meglio costantemente se la cultura è fatta in gelatina molto alcalina (aggiungendo l'1,5 ‰ di Na CO_3 alla gelatina previamente neutralizzata). Se la gelatina non è molto alcalina, essa vien fluidificata lentamente e con poca intensità, di modo che il fenomeno può sfuggire all'osservatore.

Dimostrato che non esistono di fatto quelle differenze di forma e di biologia, le quali potrebbero autorizzare, qualora esistessero, ad una classificazione di parecchi germi della pseudo-tubercolosi, e constatato da tutti che questi microparassiti, supposti diversi, inoculati negli animali hanno sempre dato le stesse identiche manifestazioni anatomo-patologiche, noi affermiamo che la pseudo-tubercolosi è malattia infettiva, causata da un unico germe specifico.

L'avere poi isolato questo germe dal pus, dal sangue di milza e dall'escreato della nostra ammalata, ci induce a credere che l'infezione della bambina sia di origine pseudo-tubercolare. A conferma della nostra diagnosi, ritorniamo ora a quello stesso esame microscopico del pus e del secreto polmonare, che, senza le ricerche batteriologiche, dichiarammo insufficiente per condurci ad una diagnosi sicura, ma che ora, unito al reperto necroscopico degli animali innestati col virus, viene a suffragare brillantemente la diagnosi che abbiamo fatto. Ricordiamo invero che nel materiale raccolto dalla bambina si era sempre constatata la presenza di microrganismi a bastoncino e rotondeggianti; ma di più ricordiamo che nel secreto polmonare oltre al solito parassita, oltre alla sostanza caseosa, trovammo un alone di cellule tipiche, di neoformazione, relativamente grandi, granulose; quelle stesse cellule che trovammo sempre nei noduli neoformati sui visceri degli animali morti di pseudo-tubercolosi; quelle stesse cellule che anche quasi tutti gli altri autori descrivono nelle manifestazioni pseudo-tubercolari (1).

Tale reperto microscopico stesso, unito al risultato delle esperienze sugli animali, non solo ci autorizza a dichiarare che la malattia della nostra bambina è d'origine pseudo-tubercolare, ma eziandio che il germe

(1) Mentre questa pubblicazione è in corso di stampa il prof. Banti, che ci ha onorati d'una breve recensione della nota preventiva del nostro lavoro, fatta dal prof. Bordoni-Uffreduzzi all'Accademia Medica di Torino (*V. Rivista Italiana di Patologia generale e Anatomia patologica*, anno I, fasc. 2^o, pag. 46), dice: « Il titolo della comunicazione sembra al Rif. inesatto, poichè gli autori hanno trovato nell'uomo un batterio capace di produrre nelle cavie e nei conigli la pseudo-tubercolosi, ma niente dimostra che anche nell'uomo abbia uguale azione patogena ». Evidentemente al prof. Banti è sfuggita l'importanza del reperto microscopico dell'escreato della bambina, dove abbiamo riscontrato distintamente un frammento di nodulo pseudo-tubercolare, costituito da quelle stesse cellule di neoformazione, che la maggior parte degli autori descrive nella pseudo-tubercolosi.

In base a tale osservazione noi persistiamo a ritenere che la bambina era veramente affetta da pseudo-tubercolosi: saremo grati al prof. Banti se vorrà indicarci quelle altre esperienze atte ad autorizzare o non il titolo del nostro lavoro.

Nota degli Autori.

specifico ha prodotto in questo caso la pseudo-tubercolosi vera e propria, poichè nel secreto polmonare dell'ammalata abbiamo osservato un frammento di tessuto neoformato, avente la stessa struttura istologica dei noduli pseudo-tubercolari.

Dimostrato che il germe isolato dal pus, dall'escreato e dal sangue di milza dell'ammalata, è l'agente specifico della pseudo-tubercolosi, e che questo germe ha prodotto le manifestazioni caratteristiche di tale affezione, era naturale che ci domandassimo se il microrganismo da noi isolato è stato l'unico agente della malattia, oppure se fu coadiuvato da altri germi patogeni, e particolarmente dal bacillo tubercolare di Koch. L'importanza di questo quesito e la necessità di esperienze accurate atte a risolverlo e l'indirizzo da seguirsi, ci furono saggiamente ricordati dal prof. Bordonì-Uffreduzzi.

Già dalle culture isolanti fatte col pus e coll'escreato in gelatina ed in agar, si era sviluppato una sola specie di colonie, che abbiamo riconosciuto costituite da bacilli della pseudo-tubercolosi.

Abbiamo ripetuto le culture, esponendole a temperature diverse (15-37° C) e tenendole in osservazione per circa 20 giorni, e sempre abbiamo constatato lo sviluppo del solo bacillo della pseudo-tubercolosi.

Questo risultato costante, unito al fatto, pure costante, che gli animali inoculati col materiale patologico fornito dall'ammalata, anche se morivano dopo un lungo periodo di malattia, non presentavano mai alterazioni anatomo-patologiche diverse da quelle della pseudo-tubercolosi, e che nei loro visceri non riuscì mai di riscontrare, nè coll'esame microscopico, nè con ricerche batteriologiche, altro germe che non fosse quello della pseudo-tubercolosi, era già sufficiente per escludere la concomitanza della maggior parte dei germi patogeni.

Soltanto, prima di escludere la presenza del bacillo della tubercolosi, occorre esperienze particolari. Noi sappiamo, che spesso è difficile rintracciare il bacillo della tubercolosi, anche quando manifestazioni tubercolari evidenti stanno a dimostrarne in modo ineluttabile la presenza. Il numero scarso e la difficoltà, colla quale si sviluppa sui mezzi di cultura sono le ragioni che ne rendono difficile la ricerca. Quando il bacillo della tubercolosi è il solo agente patogeno che abbia prodotto una data manifestazione morbosa, allora è abbastanza facile trovarlo mediante innesto nelle cavie: è questo il mezzo più comunemente usato allo scopo.

Ma quando al bacillo tubercolare si associano altri germi, allora anche coll'innesto negli animali può essere difficile trovarlo, poichè in generale il microrganismo a lui associato uccide l'animale prima che le manifestazioni tubercolari abbiano tempo di apparire.

Il problema poi era complicato e difficile nel nostro caso, poichè il bacillo di Koch, dato che esistesse, era associato ad un microrganismo il quale, oltre ad uccidere gli animali in tempo più breve che non il vero bacillo della tubercolosi, produceva nei loro visceri dei noduli che macroscopicamente ed anche, in qualche modo, microscopicamente potevano rassomigliare a quelli che si riscontrano nella tubercolosi genuina.

Perciò, volendo tentare di scoprire la presenza del bacillo di Koch, innestando negli animali il materiale sospetto, conveniva, prima dell'innesto, eliminarne il bacillo della pseudo-tubercolosi, senza danneggiare l'altro microrganismo. Vi siamo riusciti traendo profitto dalla resistenza diversa dei due germi all'azione del calore. — A questo proposito Forster (1) ha dimostrato che il bacillo di Koch contenuto nei prodotti patologici dei processi muore all'azione della temperatura umida di 60 centigradi, prolungata per 45'-60'. — È noto, per le esperienze di Grancher e Ledoux-Lebard, che il bacillo di Koch può resistere a temperature elevate e conservare la sua virulenza anche se sottoposto per circa un'ora all'azione dell'acqua bollente. Sappiamo pure, dalle nostre esperienze, che il bacillo della pseudo-tubercolosi muore invece alla temperatura di 60 centigradi, continuata per 10 minuti. Orbene, in omaggio a tali esperienze, noi abbiamo sottoposto per 15 minuti alla temperatura di 60 centigradi il pus ed il secreto polmonare della bambina; con questa manovra abbiamo distrutto il germe della pseudo-tubercolosi (poichè le culture fatte successivamente rimasero sterili), mentre abbiamo risparmiato in vita i bacilli di Koch, pur ammettendone la presenza.

Le culture fatte col materiale così trattato rimasero sterili; noi le tenemmo in osservazione per oltre un mese e non ci fu dato di constatare segno alcuno di sviluppo.

L'innesto dello stesso materiale nel cavo peritoneale dei conigli e delle cavie non produsse la morte di questi animali; abbiamo ucciso le cavie 40 giorni dopo l'inoculazione ed i conigli due mesi dopo, ma in nessun organo abbiamo trovato traccia di tubercolosi.

Dunque bacilli di Koch non esistevano nel materiale patologico raccolto dalla nostra bambina: dunque essa era affetta puramente ed unicamente da pseudo-tubercolosi. — Il nostro caso ci porge pure occasione a fare alcune considerazioni cliniche importanti.

Gli autori, specialmente francesi, hanno descritto una forma di tubercolosi generalizzata propria della prima infanzia, caratterizzata da ca-

(1) I. Forster, " Ueber die Einwirkung von hohen temperaturen auf Tuberkelbacillen, " *Hygien. Rundschau*, 1852, pag. 460.

chessia progressiva, micropoliadenia, ipertrofia della milza e del fegato, dovuta alla presenza di granulazioni miliari nel parenchima.

Questa sindrome, come risulta dalla storia, era così spiccata nella nostra bambina che, a tutta prima, fummo indotti a pensare che si trattasse di un caso di tubercolosi generalizzata.

Invece le ricerche nostre estese a parecchi visceri (polmone, pleura e milza), hanno escluso affatto la tubercolosi, dando una novella prova, ma più rigorosa e decisiva, di quanto già uno di noi (1) aveva, colla scorta delle sezioni eseguite all'Istituto di anatomia patologica di Torino, dimostrato, che cioè *non sempre la fisionomia clinica della tubercolosi generalizzata ha un substrato anatomico di natura tubercolare*.

La prognosi della pseudo-tubercolosi, per quanto si riferisce alla nostra osservazione, non potendo l'altre essere invocate, perchè o trattasi evidentemente di infezione mista oppure non è assolutamente esclusa la partecipazione di altro microorganismo patogeno, si deve ritenere favorevole sia *quo ad vitam* come *quo ad valetudinem*, conservandosi tuttora, dopo più di un anno, perfetta la salute della nostra bambina.

Da ultimo, se ben si considerano le alterazioni — tumefazione dei gangli linfatici; ingrossamento notevole della milza e del fegato, dovuto alla presenza di noduli di neoformazione nel parenchima — che noi abbiamo costantemente riscontrate negli animali di esperimento, qualunque fosse la via d'innesto della malattia, alterazioni identiche, all'infuori della natura, a quelle della tubercolosi generalizzata, è da presumere che alcuni dei casi, ritenuti di tubercolosi generalizzata, appartengano di fatto alla pseudo-tubercolosi.

Da ciò seguirebbe un nuovo indirizzo ad ulteriori ricerche, richiamando la nostra attenzione a quelle forme morbose che è più probabile ci possano offrire materiale di studio per la storia della pseudo-tubercolosi nell'uomo.

Dal presente lavoro ci limitiamo, per ora, a trarre le seguenti conclusioni:

1° La pseudo-tubercolosi è malattia causata da *un germe specifico, polimorfo, conosciuto*, che è patogeno anche per l'uomo, al quale può trasmettere la malattia, producendovi le stesse neoformazioni che si osservano negli animali pseudo-tubercolotici.

2° È questa la prima volta che si riuscì a riconoscere con certezza la pseudo-tubercolosi come malattia dell'uomo, sia per gli elementi riscon-

(1) E. Mensi, « Contributo allo studio della tubercolosi infantile, » *Gazzetta Medica di Torino*, 1894.

trati nel materiale patogeno, e specialmente nel secreto polmonare (frammenti di noduli pseudo-tubercolari), e sia perchè venne esclusa, nel modo più sicuro, con esperienze apposite, la compartecipazione del bacillo tubercolare di Koch nel processo patologico che abbiamo studiato.

3° La pseudo-tubercolosi può simulare clinicamente la tubercolosi generalizzata.

LETTERATURA.

Malassez et Vignal, *Archives de Physiologie normale e pathologique*, 1883 et 1884.

Eberth, *Virchow's Archiv.* 1886, Bd. CIII, pag. 488.

Charrin et Roger, « Comptes rendus de l'Académie des sciences de Paris », 1888. T. CVI. p. 868.

Dor, « Ebenda » 1888, T. CVI, pag. 1027.

Pfeiffer A. « Ueber d. bacill. Pseudotuberculose b. Nagethieren ». Leipzig, 1889.

Nocard et Masselin, « Comptes rendus de la soc. de biologie ». 1889, p. 177.

Courmont, « Ebenda » 1889, p. 215, 513, 721.

Zagari. *Riforma medica*, 1889, N° 258.

Grancher et Ledoux-Lebard, *Arch. de med. expér. et d'anat. pathol.*, 1889, N° 2, p. 203.

Kitt, *Monatshefte für praktische Thierheilkunde*, 1890, Bd. 1, pag. 146.

Parietti. *Centralblatt für Bakt. und Parasit.*, 1890, Bd. VIII, N° 19.

Vincenzi. *Giornale della R. Accad. di Medic. di Torino*, 1890, p. 509.

Preis et Guinard. *Journal de méd. vétér.* 1891, T. XLII, p. 563.

Megnin et Mosny. *La semaine médicale*, 1891.

Hayem. « Ebenda », 1891, N° 35, pag. 285.

Du Cazal et Veillard. *Annales de l'Institut. Pasteur*, 1891, N° 6, p. 353.

Le Bulletin méd. 1891, N° 89, p. 1019.

G. Muscatello. Esposizione sommaria di alcuni casi clinici, ecc., pag. 17, Tipografia Panfilo Gastaldi, Feltre, 1894.
